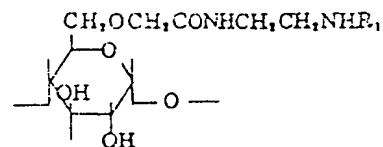
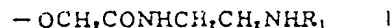


**(54) COATED FAT EMULSIFIER**

(11) 63-319046 (A) (43) 27.12.1988 (19) JP  
 (21) Appl. No. 62-155393 (22) 24.6.1987  
 (71) EISAI CO LTD (72) KIYOSHI IWAMOTO(6)  
 (51) Int. Cl.: B01J13/00, A61K9/10

**PURPOSE:** To control directiveness of a medicine to a targeted internal organ and to decrease disappearance rate of the medicine from blood by coating fat emulsifier particles with native polysaccharide derivative of specified structure to form an emulsifier.

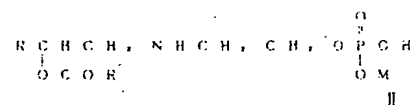
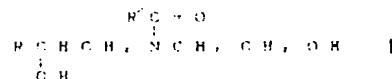
**CONSTITUTION:** By mixing the fat emulsifier with the native polysaccharide derivative and stirring with a mixer, the fat emulsifier coated with the native polysaccharide derivative is obtd. The native polysaccharides is pullulan, amylose amylopectin, dextran or mannan, and one of the derivatives contains 0.5~5.0 saccharide units per 100 component saccharide units in the polysaccharid, prim. hydroxyl group on six-position carbon atom in these saccharide units being a group of formula I, where R<sub>1</sub> is H or cholesteryloxycarbonyl group. Therefore, in the amylose, the 0.5~5.0 saccharide units per 100 component units are saccharide unit of formula II.

**(54) AGENT FOR FORMING LIPOSOME**

(11) 63-319047 (A) (43) 27.12.1988 (19) JP  
 (21) Appl. No. 62-157265 (22) 23.6.1987  
 (71) KANEBO LTD (72) KAZUYUKI TSUBONE  
 (51) Int. Cl.: B01J13/02, A61K9/10//A61K47/00

**PURPOSE:** To increase safety of liposome and to form stable liposome by producing an agent for liposome with 2-(1-N-2-fatty acid ester alkylamino) ethylphosphoric acid salt of specified formula.

**CONSTITUTION:** To a tetrahydrofuran soln. dissolved 2-hydroxy-N-acylalkylaminoethanol of formula I, where R and R' are alkyl group contg. 10~20 carbon atoms and alkenyl group contg. 9~19 carbon atoms, respectively, phosphorus pentaoxide is added in the amt. of 10 times mol and is reacted for 2~10hr with reflux. After cooling, a base is added and then, by concentrating and desalting, the agent for forming liposome consisting of 2-(1-N-2-fatty acid ester alkylamino)ethylphosphoric acid salt of formula II, where R and R' are the same meaning in formula I and M is Na, K, ammonium or triethanolamine ion, is obtd.

**(54) ADSORBENT USING HYDROXYAPATITE**

(11) 63-319048 (A) (43) 27.12.1988 (19) JP  
 (21) Appl. No. 62-153523 (22) 22.6.1987  
 (71) SANGI K.K. (72) KIMINORI ATSUMI  
 (51) Int. Cl.: B01J20/02, B01J20/28, C12N11/14, G01N30/48

**PURPOSE:** To use under severe flow condition an adsorbent increased its mechanical strength by forming the adsorbent by use of columnar calcined hydroxyapatite in which at least one small tubular hole passed through in the perpendicular direction is made.

**CONSTITUTION:** In the hydroxyapatite formed into columnar shape, the small tubular hole passed through in the perpendicular direction is made by physical or chemical method and the hydroxyapatite is calcined at 800~1,500°C, preferably 1,000~1,200°C. The calcined formation is a columnar body of  $\geq 100\mu\text{m}$  column diameter and  $\geq 10\mu\text{m}$  in column height, having the small tubular hole of  $\geq 10\mu\text{m}$  diameter passed through in the perpendicular direction. As the hydroxyapatite particle formed by calcining according to a purpose has strong mechanical strength, the adsorbent is suitable to effectively use under severe flow condition as packing for column chromatography, fixed carrier for micro-organism and enzyme.

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭63-319046

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)12月27日

B 01 J 13/00  
A 61 K 9/10

3 0 7

A-8317-4G  
B-6742-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全9頁)

⑮ 発明の名称 被覆脂肪乳剤

⑯ 特 願 昭62-155393

⑰ 出 願 昭62(1987)6月24日

⑱ 発 明 者 岩 本 清 茨城県新治郡桜村梅園2-17-1  
 ⑱ 発 明 者 加 藤 隆 茨城県新治郡桜村天久保2-23-5 メゾン学園108  
 ⑱ 発 明 者 河 原 政 裕 茨城県新治郡桜村下広岡410-137  
 ⑱ 発 明 者 小 山 典 利 茨城県北相馬郡守谷町久保ヶ丘3-15-5  
 ⑱ 発 明 者 渡 辺 純 男 茨城県筑波郡谷田部町稲荷前9-6 ヴィラエスポワール  
 301  
 ⑱ 発 明 者 三 宅 康 夫 茨城県筑波郡谷田部町春日2-20-5 つくばねハイツ  
 202  
 ⑱ 発 明 者 砂 本 順 三 長崎県長崎市横尾4-16-10  
 ⑲ 出 願 人 エーザイ株式会社 東京都文京区小石川4丁目6番10号  
 ⑳ 代 理 人 弁理士 高木 六郎 外1名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

被覆脂肪乳剤

## 2. 特許請求の範囲

(1) ブルラン、アミロース、アミロペクテン、デキストランおよび(または)マンナンにおいて、それを構成する糖単位100個あたり0.5~5.0個の糖単位は、その6位炭素における1級水酸基が式



(式中R<sub>1</sub>はHまたはコレステリルオキシカルボニル基を被覆す)

によつて示され、かつ該式中R<sub>1</sub>がコレステリルオキシカルボニル基である場合の糖単位は0.5~4.5個である天然由来多糖誘導体、またはブルラン、アミロース、アミロペクテン、デキストランおよび(または)マンナンにおいて、それを構成する糖単位100個あたり0.5~10.0個の糖単位は、その6位炭素における1級水酸基が式



(式中R<sub>2</sub>は炭素数12から20の直鎖アシル基を被覆す)

によつて示される天然由来多糖誘導体で、脂肪乳剤粒子が被覆されていることを特徴とする脂肪乳剤。

(2) 脂肪乳剤中にユビデカレノン、トコフェロール、トコフェリルアセテート、トコフェリルニコチネート、ビタミンK<sub>1</sub>、ビタミンK<sub>2</sub>、アイロプロストおよびその他のプロスタグランジン、インドメサシンフアルネゾールエステルが配合されていることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の脂肪乳剤。

(3) 天然由来多糖誘導体が脂肪乳剤1μlに対して1mg~50mgである特許請求の範囲第1項または第2項記載の脂肪乳剤。

## 3. 発明の詳細な説明

## 産業上の利用分野

本発明は天然由来多糖誘導体(以下、本発明に係る誘導体という)で脂肪乳剤粒子が被覆された脂肪乳剤(以下本発明脂肪乳剤という)に関する。

## 従来技術と問題点

医薬品分野において脂肪乳剤すなわち脂肪乳化液の注射投与による生体内利用が最近とみに注目されるに至っている。すなわち従来から乳化系は油性物質の経口投与のための剤型として、あるいは皮膚への局所投与のための剤型として一般に使用されてきた。しかしながら、乳化系がいわゆるパレンテラルなドラッグデリバリーシステムにおいても有用であることが知られるようになった。したがって、この面から、注射投与における生体内利用を高めることを目的とする剤型であり、しかもリポソームとは異なる剤型のものとして使用される試みがなされている。かかる傾向を詳細に説明する参考として下記文献を示す。

S. S. Davis: Emulsion systems for the delivery of drugs by the parenteral route. Optimization of drug delivery, Alfred Benzon Symposium 17. Editors; Hans Bundgaard et. al. Copenhagen 1982.

さて脂肪乳剤において、とりわけ問題となる点はいわゆる標的臓器への薬物の指向性を任意にコ

ントロールする技術が未だ確立していないことである。また脂肪乳剤は一般に薬物の血中からの消失速度が大きいので、一定の血中濃度を一定時間維持することが困難である。このために脂肪乳剤では消失速度を小さくするためのいわゆる遅延技術が必要であり、それが未だ確立していない。

## 解決手段

脂肪乳剤における前記問題点を解決するために種々の検討を行つた結果、本発明に係る天然由来多糖誘導体で脂肪乳剤の粒子を被覆することによつて目的が達成されることを知り、本発明を完成するに至つた。すなわち、本発明は脂肪乳剤投与において、標的臓器への薬物の指向性をコントロールし、また薬物の血中消失を遅延することを目的として、本発明に係る天然由来多糖誘導体で脂肪乳剤粒子を被覆することを特徴とする脂肪乳剤を要旨とするものである。

以下に本発明を詳細に説明する。

本発明において、脂肪乳剤とは、植物油および動物油 1 ~ 30 重量%、乳化剤〔リン脂質界面活性

剤など〕 0.1 ~ 10 重量%、等張化剤、pH調整剤および適量の水から主として成るものを言う。

その他、脂肪酸類 2 重量%以下、コレステロール 3 重量%以下、ホスファチジン酸 2 重量%以下、ジセチルホスフェート 1 重量%以下なども添加できる。

本発明で用いる植物油は、食品用あるいは医薬用として使用可能なものであれば制限はないが、大豆油、ゴマ油、綿実油、オリーブ油などが好ましい。また動物油としてはエイコサペンタエン酸などが用いられる。

リン脂質とは、卵黄および大豆由来のレシチンで、これらを水素添加した水添レシチン（ヨウ素化度 0 ~ 70）も使用できる。

界面活性剤は主として非イオン性界面活性剤であり、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体、例えば HCO-40、HCO-50、HCO-60、およびポリオキシエチレンポリオキシプロピレンエーテル誘導体、例えばプルロニック F-68 などが主として用いられる。

また本発明において、リン脂質と界面活性剤と

を混合して乳化剤として用いることができる。

等張化剤として、グリセリン、ブドウ糖、マルトースなどを用いることができる。

pH調整剤として、塩酸、水酸化ナトリウム、トリスヒドロキシメチルアミノメタンなどを用いる。

脂肪酸は炭素数 10 ~ 22 で直鎖状、分枝状のいずれでも、食品用、医薬用として使用可能なものであれば使用でき、例えばステアリン酸、パルミチン酸、ミリスチン酸、オレイン酸、リノール酸などが用いられる。またこれらの脂肪酸の塩も用いることができ、ナトリウム塩、カリウム塩などを用いることができる。

本発明における脂肪乳剤は 1  $\mu$ m 以下の粒子径のもので、好ましくは 0.2 ~ 0.4  $\mu$ m のものである。

次に本発明に係る天然由来多糖誘導体を説明すると、以下のごとくである。

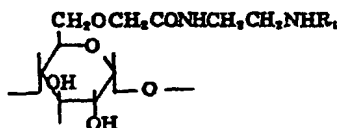
まず、天然由来多糖とはプルラン、アミロース、アミロペクチン、デキストラン、マンナンである。本発明に係る誘導体の一つは、これら多糖において、それを構成する糖単位 100 個あたり、0.5 ~ 5.0 個

の糖単位がその6位炭素における1級水酸基が式

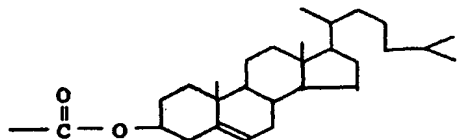


(式中  $R_1$  はHまたはコレステリルオキシカルボニル基を表わす)

によつて示される。従つて例えばアミロースにおいて、その100個あたり0.5~5.0個の糖単位は



のどとく示される。ここでさらに該誘導体において、 $R_1$  がコレステリルオキシカルボニル基である糖単位は0.5~4.5個である。コレステリルオキシカルボニル基は下記の構造式によつて示される。



ジナイザー(マントン・ゴーリンホモジナイザー)又は超音波ホモジナイザーを用いることにより精乳化し、均質な脂肪乳剤を得る。

こうして得られた脂肪乳剤と天然由来多糖誘導体を混合し、攪拌機で攪拌するか、超音波処理することにより天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤が得られる。本発明の天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤は平均粒子径1.0 $\mu$ m以下ときわめて微細である。

脂肪乳剤粒子を本発明に係る誘導体が被覆しているかについての確認は、レクチンの一種であるコンカナバリンAによる脂肪乳剤粒子の凝集によつて知ることができる。

すなわちコンカナバリンAはマンノース、およびグルコースと結合する性質を持つており、結合部位を複数個持つている。従つて脂肪乳剤が天然由来多糖誘導体により被覆されていれば、コンカナバリンAが天然由来多糖誘導体と結合し、脂肪乳剤どうしの凝集がおこる。一方天然由来多糖誘導体により脂肪乳剤が被覆されてなければ、コンカ

また本発明に係る誘導体の他の一つは、前記多糖においてそれを構成する糖単位100個あたり0.5~10.0個の糖単位は、その6位炭素における1級水酸基が式



(式中  $R_2$  は炭素数12から20の直鎖アルキル基を表わす)

によつて示される天然由来多糖誘導体であり、特に好ましくはペルミタン酸である。

なお、上記誘導体については特開昭61-69801号公報および特開昭58-201711公報があり、そこにおける記述が参照される。これらの誘導体はリボソーム表面の被覆に使用されることが知られているが、本発明に示されるごとく、脂肪乳剤に使用されることは全く知られていない。

本発明の脂肪乳剤の製造は以下のように行う。

すなわち、所定量の植物油もしくは動物油、乳化剤、等強化剤、親油性薬物およびその他の添加剤を混合加温し、これに適量の水を加えホモミキサーを用いて粗乳化する。次いで加圧噴射型ホモ

ナバリンAによる脂肪乳剤の凝集はおこらない。これらの詳細は実験例で説明する。

脂肪乳剤中に配合される医薬品は親油性物質であり、具体的には植物油および動物油に親和性のある医薬品であつて、例えば脂肪乳剤中にユビダカレノン、トコフェロール、トコフェリルアセテート、トコフェリルニコチネート、ビタミン $K_1$ 、ビタミン $K_2$ 、アイロプロスト(PGI $_2$ )およびその他のプラスタグランジン、インドメサシンファルネソールエステル等を挙げることができる。

また、脂肪乳剤中に配合される本発明に係る天然由来多糖誘導体は、好ましくは脂肪乳剤1mlに対して1 $\mu$ m~50 $\mu$ mであるが、特に制限はない。

#### 作用効果

本発明の作用効果は、本発明に係る天然由来多糖誘導体の種類を適宜選択して被覆することによつて、薬物の機能的臓器への指向性をコントロールすることができ、また血中からの薬物の消失速度を遅延させることができる点にある。

## 実施例

## 実施例 1

グリセリン12.5gを含む水400mlで、精製卵黄レシチン6gを60～90℃で分散させた。この液にあらかじめ60～90℃に加熱しておいた大豆油50gを徐々に加えながらホモミキサーで30分間乳化し粗乳化液とした。次いで精製水を加えて800mlとし、この液をマントン-ゴ-リン型ホモジナイザーで乳化(1段目100kg/cm<sup>2</sup>、合計圧500kg/cm<sup>2</sup>)し、極めて微細な脂肪乳剤を得た。この乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであり、1μm以上の粒子を含有しなかつた。

こうして得られた脂肪乳剤10mlに、コレステロール基導入マンナン水溶液(24mg/ml)を5ml加え、穏やかに超音波処理し、天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤を得た。この天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであつた。

## 実施例 2

大豆油50gに、精製卵黄レシチン6g、オレ

脂肪乳剤を得た。平均粒子径は0.2～0.4μmで、1μm以上の粒子を含有しなかつた。

こうして得られた脂肪乳剤10mlに、コレステロール基導入プルラン水溶液(6mg/ml)を5ml加え、穏やかに超音波処理し、天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤を得た。この天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであつた。

## 実施例 4

12.5gのCoQ<sub>10</sub>をあらかじめ大豆油に加える以外は、実施例1と同様の方法でCoQ<sub>10</sub>含有脂肪乳剤を得た。平均粒子径は、0.2～0.4μmで1μm以上の粒子を含有しなかつた。

こうして得られた脂肪乳剤10mlに、コレステロール基導入マンナン水溶液(24mg/ml)を5ml加え、穏やかに超音波処理し、天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤を得た。

このCoQ<sub>10</sub>含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであつた。

## 実施例 5

5.0gのα-トコフェロールをあらかじめ大豆

イン酸ナトリウム0.15gおよびホスファチジン酸0.15gを加え60～90℃に加熱して溶解した。これにあらかじめ60～90℃に加熱しておいた精製水400mlを加え、次いでグリセリン12.5gを加え、さらに精製水を加えて全量を500mlにし、ホモミキサーで30分間粗乳化した。これをマントン-ゴ-リン型ホモジナイザーで乳化(1段目100kg/cm<sup>2</sup>、合計圧500kg/cm<sup>2</sup>)し、極めて微細な脂肪乳剤を得た。この乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであり、1μm以上の粒子を含有しなかつた。

こうして得られた脂肪乳剤10mlに、コレステロール基導入アミロペクテン(60mg/ml)を5ml加え、穏やかに攪拌器で攪拌し、天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤を得た。この天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであつた。

## 実施例 5

0.5gのコレステロールをあらかじめ大豆油に加える以外は、実施例1と同様の方法で未被覆脂

油に加える以外は実施例1と同様の方法でα-トコフェロール含有脂肪乳剤を得た。平均粒子径は、0.2～0.4μmで、1μm以上の粒子を含有しなかつた。

こうして得られた脂肪乳剤10mlに、コレステロール基導入マンナン水溶液(24mg/ml)を5ml加え、穏やかに超音波処理し、天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤を得た。このCoQ<sub>10</sub>含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μmであつた。

## 実施例 6

5.0mgのフィロプロストをあらかじめ大豆油に加える以外は実施例1と同様の方法で<sup>(フィロプロスト)</sup>含有脂肪乳剤を得た。平均粒子径は0.2～0.4μmで1μm以上の粒子を含有しなかつた。

こうして得られた脂肪乳剤10mlに、コレステロール基導入マンナン水溶液(24mg/ml)を5ml加え、穏やかに超音波処理し、天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤を得た。この<sup>(フィロプロスト)</sup>含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径は0.2～0.4μm

であつた。

# 実験例 1

## 試 料

実施例 1 および実施例 4～6 記載と同様の方法にて下記 a～l の検体試料を用意した。

- a. 未被覆脂肪乳剤
- b. 天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入マンナン  
(分子量 200,000、コレステロール基置換度 2.3)
- c. 天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入アミロペクテン  
(分子量 112,000、コレステロール基置換度 1.8)
- d. 天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし天然由来多糖誘導体はパルミトイル基導入アミロペクテン  
(分子量 112,000、パルミトイル基置換度 8.0)
- e. 乳剤、ただしビタミン K<sub>1</sub> を 5 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入アミロペクテン  
(分子量 112,000、コレステロール基置換度 2.0)
- f. ビタミン K<sub>2</sub> 含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただしビタミン K<sub>2</sub> を 5 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入マンナン  
(分子量 200,000、コレステロール基置換度 2.3)
- g. アイロプロスト含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただしアイロプロストを 10 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入マンナン (分子量 200,000、コレステロール基置換度 2.3)
- h. インドメサシンフアルネソールエステル含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし、インドメサシンフアルネソールエステルを 10 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入マンナン  
(分子量 200,000、コレステロール基置換度 2.3)

- e. 天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入プルラン  
(分子量 50,000、コレステロール基置換度 1.9)
- f. ユビデカレノン含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただしユビデカレノンを 25 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入マンナン  
(分子量 200,000、コレステロール基置換度 2.3)
- g. α-トコフェロール含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただしα-トコフェロールを 10 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入マンナン  
(分子量 200,000、コレステロール基置換度 2.3)
- h. α-トコフェリルアセテート含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただしα-トコフェリルアセテートを 5 mg/ml 含有し、天然由来多糖誘導体はコレステロール基導入プルラン  
(分子量 65,000、コレステロール基置換度 1.7)
- i. ビタミン K<sub>1</sub> 含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪

## 方 法

### 平均粒子径の測定

天然由来多糖誘導体被覆前後の脂肪乳剤の平均粒子径(直径)をサブミクロンアナライザーにより測定した。

脂肪乳剤表面への天然由来多糖誘導体被覆の確認  
試料 a～l を 2.0 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.2) で 1000 分の 1 に希釈し、これに糖鎖基を認識する凝集素であるコンカナバリン A を加え、脂肪乳剤の凝集から天然由来多糖誘導体被覆を検定した。脂肪乳剤の凝集は 620 nm の吸光度変化により調べた。

### 結 果

天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤の平均粒子径を表 1 に示す。

表 1

試 料	天然由来多糖誘導体の添加量(μg)①	平均粒子径 (平均±標準偏差)
a	0	288 ± 99
b-1	7.2	289 ± 49
b-2	3.6	286 ± 100
b-3	1.8	264 ± 87
c-1	7.2	271 ± 80
c-2	3.6	278 ± 108
c-3	1.8	255 ± 120
d-1	7.2	247 ± 41
d-2	3.6	201 ± 53
d-3	1.8	265 ± 81
e	7.2	267 ± 87
f	7.2	262 ± 83
g	7.2	272 ± 78
h	1.8	278 ± 81
i	1.8	290 ± 91
j	1.8	285 ± 88
k	7.2	288 ± 77
l	7.2	296 ± 86

① 10%脂肪乳剤1mlに対して添加した  
天然由来多糖誘導体の添加量

添加量に応じて凝集能が増大することから、添加量に応じて天然由来多糖誘導体被覆量も増加している。未被覆脂肪乳剤は、凝集能を全く持たず、またコレステロール基導入マンナンのみではわずかな吸光度の増加しか認められない。

#### 実験例 2

##### 試 料

実施例 4 記載において  $\text{CoQ}_{10}$  の代わりに、 $^{14}\text{C}-\text{CoQ}_{10}$  を使用した点を除いて実施例 4 と同様の方法によつて下記 a-e の検体試料を用意した。

- $^{14}\text{C}-\text{CoQ}_{10}$  含有脂肪乳剤
- $^{14}\text{C}-\text{CoQ}_{10}$  含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし天然由来多糖誘導体は、コレステロール基導入マンナン  
(分子量 200,000、コレステロール基置換度 23)  
天然由来多糖誘導体被覆量は脂肪乳剤 1 ml に対して 7.2 μg
- $^{14}\text{C}-\text{CoQ}_{10}$  含有天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤、ただし天然由来多糖誘導体は、コレステロール基導入アミロペクチン

表 1 の説明

表 1 に示されるように、被覆天然由来多糖誘導体の種類、量によつて被覆前後で脂肪乳剤の平均粒子径に大巾な変化は認められない。

天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤のコンカナバリン A 添加による凝集を図 1 に示す。

図 1 の説明

1)~5) は次に示す試料である：

- 表 1 の b-1 の試料、
- 表 1 の b-2 の試料、
- 表 1 の b-3 の試料、
- 表 1 の a の試料、
- コレステロール基導入マンナンのみ。

矢印はコンカナバリン A (250 μg/0.1 ml 緩衝液) を測定試料に加えた時点を示す。

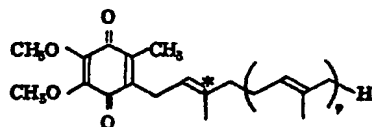
図の横軸は時間(分)を示し、縦軸は 620 nm の吸光度の変化を示す。 $\text{Abs.}_t$  は時間 t における 620 nm の吸光度を、 $\text{Abs.}_0$  はコンカナバリン A を添加しない時の 620 nm の吸光度をそれぞれ示す。

図 1 に示すように、被覆天然由来多糖誘導体の

(分子量 112,000、コレステロール基置換度 18)

天然由来多糖誘導体被覆量は脂肪乳剤 1 ml に対して 7.2 μg

尚  $^{14}\text{C}-\text{CoQ}_{10}$  は下記の構造式によつて示される放射ラベル化ユビデカレノンである。



\*  $^{14}\text{C}$ -標識位置

##### 方 法

##### 動物実験

雄性モルモット(体重 280~350 g)の左大腿部静脈に検体試料 0.76 ml  $^{14}\text{C}-\text{CoQ}_{10}/\text{E}_7$  を注入して縫合した。その後はモルモットを飼育ケージに放置し、所定時間経過ごとに耳静脈から採血した。採取した血液中の放射能強度を以下に記載する方法で測定した。

尚、投与後 30 分および 24 時間後に麻酔下大

動脈より注射器で脱血して殺し、各臓器を摘出した。

#### 血液中放射能の測定

耳静脈より20 $\mu$ Lまたは50 $\mu$ Lの血液を採取し、0.75 $\mu$ LのSolueno 350/イソプロピルアルコール(1/1、体積比)で可溶化し、数滴の過酸化水素水を加えて脱色後、instagel/0.5N HCL(9/1、体積比)5 $\mu$ Lを加え、液体シンチレーション・カウンタを用い放射能を測定した。

#### 臓器内放射能の測定

臓器約50 $\mu$ gを0.5 $\mu$ LのSolueno 350に加え、室温、約12時間のインキュベーションで臓器を可溶化後、5 $\mu$ Lのinstagel/0.5N HCL(9/1、体積比)を加え、液体シンチレーション・カウンタを用い放射能を測定した。

#### 結果

図2は検体試料投与後の血中の放射能濃度推移を示す。

図3及び図4は、投与後30分および24時間での検体間の臓器移行性を比較して示す。

#### 4. 図面の簡単な説明

図1は本発明の天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤において、該誘導体の添加量と凝集能との関係を示すグラフ図である。

図2は検体試料投与後の血中の放射能濃度推移を示すグラフ図である。

図3及び図4は、投与後30分及び24時間における検体間の臓器移行性を対比して示すものである。

特許出願人 エーザイ株式会社

代理人 高木 六郎

代理人 高木 文

#### 図2の説明

○印線は試料aを投与した場合のもの、●印線は試料bを投与した場合のもの、△印線は試料cを投与した場合のもの(3例の平均値)をそれぞれ示す。

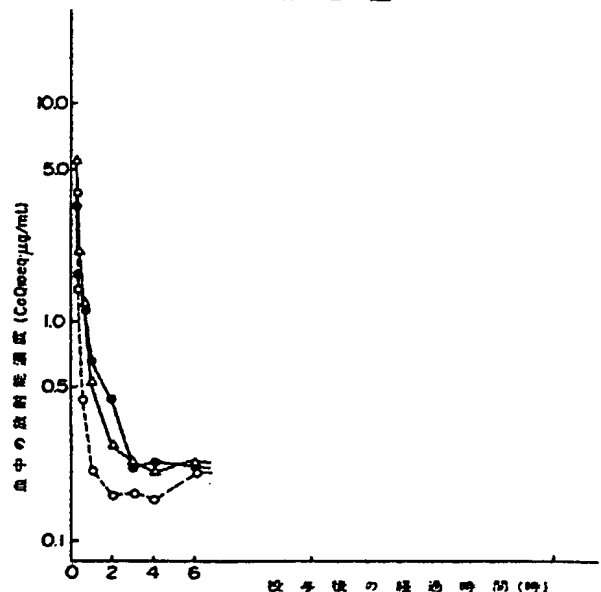
図2から天然由来多糖誘導体被覆脂肪乳剤中の $^{14}$ C-CoQ $_{10}$ の血中からの消失は未被覆脂肪乳剤中の $^{14}$ C-CoQ $_{10}$ の消失よりも投与後初期において遅いことが判る。

#### 図3および図4の説明

□、■、および▨の各カラムは試料a、試料bおよび試料cをそれぞれ投与した場合の臓器移行量を示す。

コレステロール基導入マンナンで脂肪乳剤を被覆することにより、肺への移行が著しく増大し、肝への移行も有意に増加した。一方、心、副腎への移行は有意に低下した。またコレステロール基導入アミロベクテン被覆脂肪乳剤では、肝への移行が増大する傾向にあった。

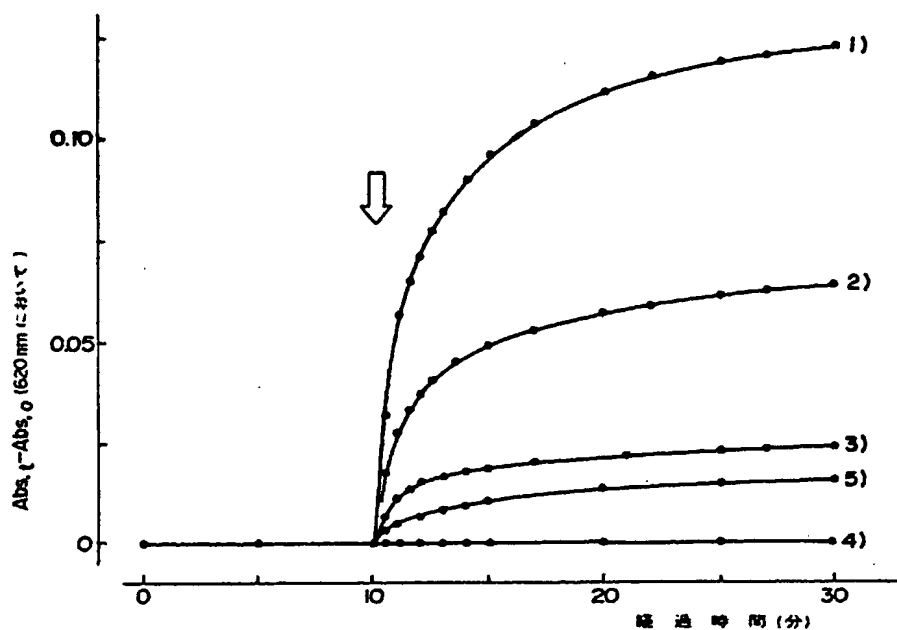
第2図



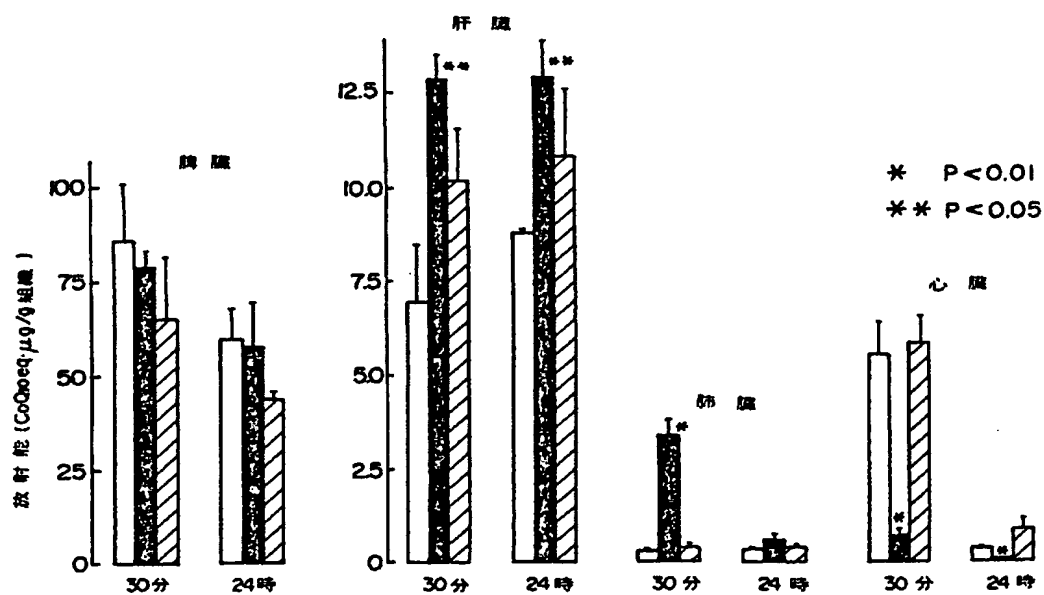


図面の浄書

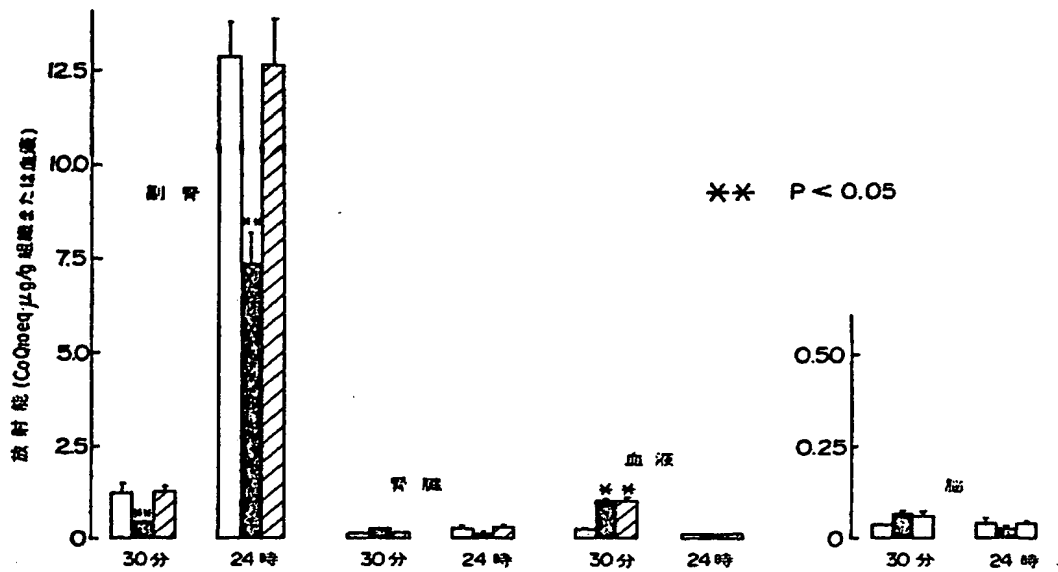
第 1 図



第 3 図



第 4 図



手 続 補 正 書 (方式)

昭和 62 年 8 月 14 日

特許庁長官 小川 邦夫 殿

事件の提示 昭和 62 年 特 許 願 第 155393 号

発明の名称 被覆脂肪乳剤

補正をする者 事件との関係 特許出願人

名 称 エーザイ 株式会社

代 理 人

住 所 東京都港区西新橋1丁目18番6号 豊宝ビル

氏 名 弁護士(6228) 高 木 大 郎

住 所 東京都港区西新橋1丁目18番6号 豊宝ビル

氏 名 弁護士(6303) 高 木 文 生

補正命令の日付 昭和 62 年 8 月 5 日

(発送日 昭和 62 年 8 月 25 日)

補正の対象 代理権を証明する書面40図面

補正の内容

1. 代理権を証明する書面(委任状)を別紙として提出した。
2. 適正図面(全図)を提出した。

方式

